

HERRAMIENTAS ALTERNATIVAS PARA LA TAXONOMÍA DE INSECTOS ACUÁTICOS

Maribet A. Gamboa
Universidad Simón Bolívar

Recibido: marzo 17, 2009 Aceptado: septiembre 18, 2009

Resumen

La taxonomía tradicional ordena los taxa dentro de jerarquías con base a caracteres morfológicos, antes de entender la genética y las bases evolutivas, para así agrupar taxa que reflejen una historia evolutiva en común. Un gran porcentaje de insectos acuáticos presentan problemas taxonómicos debido a las limitaciones que propician los estudios morfológicos clásicos. De allí surgen diversas técnicas que se emplean para el estudio taxonómico (morfología, morfometría, hidrocarburos cuticulares, feromonas, ecología y comportamiento, citogenética, aloenzimas y ADN). La combinación de estas herramientas podría ser una mejor alternativa para dilucidar dudas en el reconocimiento y diferenciación de organismos, así como en los insectos acuáticos, a pesar de que esta morfología sigue siendo la herramienta básica de estudio.

Palabras clave: Aloenzimas, ADN, comportamiento, feromonas, hidrocarburos, cuniculares, métodos taxonómicos, morfología, morfometría.

Abstract

Traditional taxonomy arranges taxa within hierarchies based on morphological characters before understanding the genetic and evolutionary basis, thus, grouping taxa that reflect a common evolutionary history. A large percentage of aquatic insects present taxonomic problems due to limitations that encourage classical morphological studies. From there, a variety of techniques arise that are used for taxonomic study (morphology, morphometry, cuticular hydrocarbons, pheromones, ecology and behavior, cytogenetics, enzymes and DNA). The contribution and combination of these tools might be a better alternative to clear doubts on the recognition and differentiation of organisms with different biological entities, as well as aquatic insects, although this morphology remains the basic tool of study.

Keywords: Allozymes, DNA, behavior, pheromones, cuniculars hydrocarbons, methods of taxonomy, morphology, morphometry.

1 Introducción

Los biólogos, se enfrentan con la tarea de identificar, estudiar, e intercambiar sistemáticamente información de la vasta diversidad de organismos, donde existen millones de especies que aun están sin describir (Winston 1999), por lo que debe disponer de un sistema para nombrarlos y agruparlos en forma ordenada y lógica, donde comience con la unidad básica de la clasificación, la especie (Scrocchi y Domínguez 1992).

Del conjunto de ideas de clasificación, surge la taxonomía, la cual es denominada como la ciencia que describe, ordena y clasifica los organismos vivos (Winston 1999). Este concepto varió después de 1860, cuando se empezó a contemplar las diferencias y similitudes entre los organismos como consecuencias de su historia evolutiva (filogenia) (Nixon y Ochoterena 2001), por lo que se procuró incluir en el concepto, dos funciones distintas: proveer métodos útiles para catalogar los organismos y reflejar el curso, a veces errático, de los cambios evolutivos (Quicke 1993).

Por lo que, el concepto de la taxonomía (gr, Taxis = orden, rango, arreglo; nomos = ley) se estableció como: la rama de la biología que se ocupa de la clasificación de los seres vivos, y su tendencia actual de realizar clasificaciones naturales (Winston 1999). La taxonomía, es dividida en: alpha taxonomía (es la identificación y/o descripción de especies y preparación de claves para la identificación de las mismas), beta taxonomía (clasificación, identificación de grupos naturales, construcción filogenético, más ampliamente llamada sistemática) y gamma taxonomía (estudio de los patrones y procesos evolutivos, rasgos evolutivos, adaptación, co-especiación, biogeografía, etc.) (Blackwelder 1967; Quicke 1993; Winston 1999).

Panchen (1992), argumenta que las semejanzas morfológicas observadas obedecen a criterios de relaciones filogenéticas: cuanto más cercanas sean dos especies, evolutivamente hablando, más parecidas serán en su morfología. Cuando un taxónomo trabaja, está realizando comparaciones de tipo filogenético aunque sea a un nivel básico y no explícito. Pero Nixon y Ochoterena (2001), argumentan lo contrario, que la taxonomía tradicional no toma en cuenta aspectos evolutivos en su elaboración del trabajo diario, ya que se basa casi exclusivamente en caracteres morfológicos.

La mayoría de los biólogos agrupan taxa mediante clasificaciones que han sido basadas en el principio de autoridad del autor y con medios no explícitos. Esto se observa en el uso de la morfología tradicional y la utilización de herramientas alternas en búsqueda de clasificar acordes con el parentesco evolutivos de los grupos, ejemplos tales como: las características morfológicas (Akers *et al.* 2003;

Bispo y Froehlich 2004; Derka 2002; Fenoglio 2004; Hamada y Marques 2003; Liria y Navarro 1999; Maldonado *et al.* 1997; Ximenes *et al.* 2002, entre otros) siguen siendo las herramientas más usadas para describir y reconocer las especies, pero también se emplean aspectos de la química del cuerpo (Maingon *et al.* 2003; Watts *et al.* 2005; Woodrow *et al.* 2000), procesos fisiológicos y genéticos (Arrivillaga *et al.* 2003; Hogg *et al.* 2002; Munstermann y Conn 1997; Szalanski *et al.* 2000) tanto a nivel del organismo como a nivel molecular.

Un gran porcentaje de insectos acuáticos no son clasificados correctamente debido a las deficiencias que propiciaban los estudios basados en caracteres morfológicos, fisiológicos (necesidad de nutrientes), estructurales (diferencias entre lípidos de membranas) etc., (Stewart y Stark 2002). En muchos casos se subestima la variabilidad de estos caracteres como pertenecientes a una misma entidad taxonómica y ocasiona errores en la taxonomía y filogenia del individuo.

Herramientas taxonómicas nuevas o más recientes, están ayudando a resolver cuanto de esta variabilidad perteneciente a una misma entidad (especie) o a diferentes entidades. En este contexto, se pretende dar a conocer las herramientas alternativas usadas para evaluar o determinar el estatus taxonómico de los insectos, mediante métodos, caracteres taxonómicos y ejemplos de trabajos en insectos acuáticos que establezcan el uso de técnicas alternativas para el estudio de la taxonomía de este grupo de insectos.

2 Caracteres

2.1 Morfología y morfometría

Debido a que la morfología es la herramienta más usada para el estudio de la taxonomía de los organismos, se encuentran muchos mas trabajos citados basados en características externas del cuerpo y las mediciones de ciertas estructuras que presentan características taxonómicas (Akers *et al.* 2003; Bispo y Froehlich 2004; Derka 2002; Fenoglio 2004; Hamada y Marques 2003; Liria y Navarro 1999; Maldonado *et al.* 1997; Navarro 1998) de diversos tipos de insectos.

El estudio de la morfología de los insectos abarca un amplio campo de estudio, el cual incluye la morfología bucal (Arrivillaga y Feliciangeli 2000; Liria y Navarro 1999; Navarro y Liria 2000), de cubierta o excorión del huevo (Maldonado *et al.* 1997), de estados inmaduros y de adultos (Akers *et al.* 2003; Bispo y Froehlich 2004; Derka 2002; Fenoglio 2004; Hamada y Marques 2003; Ximenes *et al.* 2002), llevando así a la diferenciación de los mismos.

La morfometría (descripción cuantitativa, análisis, e interpretación y variación de la forma biológica) tradicional en cambio, consta de mediciones lineales de estructuras o zonas del organismo de interés taxonómico (Rohlf 1998).

La crítica que tiene esta técnica es que no es posible hacer inferencias filogenéticas, debido a que no emplea estructuras homólogas de las distancias lineales que pudieran ser empleadas como relaciones ancestro-descendiente, la forma del organismo es parametrizada y la toma de las distancias se puede volver repetitiva (Adams *et al.* 2003).

Un ejemplo de ambas técnicas para insectos acuáticos, es el trabajo de Bispo y Froehlich (2004), el cual estudia un género de Plecoptera del Neotropico, *Anacroneuria*, en el estado de Goias en Brasil, en donde se han descrito dos especies, *A. dourada* y *A. galba*, a partir de hembras adultas. El objetivo fue revisar estas especies y aumentar el número de ejemplares revisados para el mismo. Los resultados reflejados en la morfología y morfometría tradicional de la cabeza, sternum y genitalia, determinaron tres especies distintas *A. pastaza*, *A. brandaoi* y *A. tinga*.

Este trabajo describe de forma extensa los caracteres morfológicos de las tres especies con ciertas mediciones morfológicas. De igual forma señalan características biológicas de la forma de colecta de la muestra que permite en un futuro relacionar los aspectos ecológicos de las especies y así poder lograr una mejor diferenciación entre ellas.

Debido a las críticas que tiene la morfometría tradicional, los investigadores exploraron métodos alternativos de cuantificación y el análisis de la morfología de forma (Adams *et al.* 2003; Rohlf 1998); los datos que capturan la geometría de la estructura morfológica y los métodos de análisis de los datos, incluyendo estudios de contorno e hitos morfológicos. Siguiendo estos avances, David Kendall y otros estadísticos desarrollaron teorías estadísticas rigurosas para el análisis de la forma que es posible combinar con el uso de los métodos de estadística multivariante y métodos de visualización directa de la forma biológica. Bookstein en 1996 se refiere a esto como la “síntesis morfométrica” (Adams *et al.* 2003).

Una crítica a la morfometría geométrica es que no se puede hacer sistemática, debido a que no necesariamente las diferencias de forma explican la especiación, ni que la forma estudiada refleja el genotipo y evolución de la especie (Adams *et al.* 2003).

De igual forma este tipo de idea sigue bajo discusión, y por tanto existen varios autores que utilizan esta herramienta para la identificación de diversos tipos de insectos (Jaramillo *et al.* 2002; Matias *et al.* 2001; Monrroy *et al.* 2003; Riva *et al.* 2001), llevando a establecer características propias complementarias a los caracteres morfológicos que las definen.

Un ejemplo de esta técnica, es el trabajo de Gamboa *et al.* (2007) con la pteroteca de los individuos de *Anacroneuria chorrera* del Andes Venezolanos y Gamboa *et al.* (sin publicar), donde diferencia cuatro especies del género *Anacroneuria* mediante la geometría de la cabeza.

Con relación a este trabajo y otros basados en los mismos principios, se puede pensar que exista una alta posibilidad de que los estudios morfométricos sean utilizados para la interpretación taxonómica de un individuo o una parte del mismo, pudiendo revelar datos y caracteres de las especies para la comparación con otras especies.

2.2 Hidrocarburos cuticulares

La quimiotaxonomía se refiere a la taxonomía que usa la información principalmente de moléculas pequeñas que son generalmente producidas por la acción de las enzimas y que toman la información de las proteínas y los ácidos nucleicos. Todos los organismos sintetizan moléculas químicas aparte de proteínas y ácidos nucleicos, que colectivamente presentan funciones diferentes y juegan un papel fundamental en caminos metabólicos esenciales y una comunicación intra e intercelular. Debido a que la producción de estos compuestos está determinado por las enzimas presentes en el genoma del organismo, tales compuestos son esencialmente equivalentes a los caracteres morfológicos (Quicke 1993).

Uno de los componentes más usados para evaluar la taxonomía de los insectos debido a la fuente de información que suministra, son los hidrocarburos cuticulares (Quicke 1993). Estos compuestos son especialmente utilizados para la taxonomía de los insectos que forman grupos sociales, como hormigas y termitas. Los avances en su investigación incluyen la extracción, separación e identificación usando una cromatografía y un espectroscopio de masa. El resultado de tales análisis son trazados mostrando la composición y abundancia relativa de varios constituyentes que son mezclas completas de los compuestos. La identidad química de muchos constituyentes es desconocida, por lo que los datos obtenidos coinciden considerablemente con las especies y normalmente varía entre especies relativamente cercanas (Haverty *et al.* 1992; Woodrow *et al.* 2000).

La razón por la que los hidrocarburos cuticulares tienen un potencial taxonómico es el hecho de que contribuyen a la regulación hídrica. Igualmente se sugiere que ellos presentan una presión selectiva similar al de las feromonas sexuales (Quicke 1993).

Gamboa *et al.* (sin publicar) utiliza los hidrocarburos cuticulares para determinar taxonómicamente cuatro especies de plecópteros tropicales, ya que se basa en que la cutícula de los insectos contiene una fina capa de cera que evita la desecación, conocida como ubiquino, la cual es sintetizada de novo de forma específica y única para cada individuo. Los hidrocarburos son los componentes de las ubiquinonas en los lípidos cuticulares y representan el 90% del material cuticular.

Estos autores logran relacionar hidrocarburos cuticulares únicos con las especies investigadas, consiguiendo nuevas clasificaciones taxonómicas. No obstante, una herramienta alternativa al estudio de la taxonomía de insectos sociales.

2.3 Feromonas

Muchos animales utilizan señales químicas para atraer pareja, estas señales se usan para atraer los potenciales machos que tienen identidad específica, por lo que su recepción es netamente sexual (Quicke 1993). Parece ser que estas feromonas sexuales evitan la pérdida de tiempo y esfuerzo en atraer individuos de diferentes especies cercanas, por lo que llevan información importante para identificar las especies (Maingon *et al.* 2003). Por tanto, debe de existir una fuerte presión selectiva para la conservación de las feromonas sexuales y por ende una ventana para la identificación entre especies. Después de todo, si un individuo da una señal errónea, conlleva a una baja producción e infertilidad como una desventaja fundamental en el interés de apareamiento (Quicke 1993).

Los trabajos con feromonas son muy pocos debido al costo que implican y la mayoría de estos, son combinados con análisis genéticos que permitan una mejor corroboración de la taxonomía de los insectos analizados (Watts *et al.* 2005).

Algunos de estos trabajos son el de Ivanov y Melnitsky (2006), que estudian en fósiles de tricópteros de Glossosomatidae, la estructura morfológica de la glándula que produce feromonas y realiza una nueva clasificación basado en cómo esta estructura ha evolucionado y permanecido en los individuos recientes de esta familia.

2.4 Comportamiento y ecología

Existe otro tipo de trabajos, que incluyen el comportamiento o la ecología del individuo o grupo de individuos como un instrumento para evaluar la taxonomía e identificación del mismo. Un ejemplo de este tipo de trabajos es presentado por Fenoglio (2004), donde estudia los plecópteros tropicales de la familia Perlidae y los clasifica de acuerdo a características del comportamiento, hábitat y región geográfica donde son encontrados.

Este tipo de trabajos basados sólo en aspectos ecológicos, deberían ir unidos a otras herramientas que evalúan la taxonomía de los individuos, para así obtener resultados concretos y más apoyados.

2.5 Citogenética

La citogenética se basa en estudiar los reordenamientos que provocan influencia en la fertilidad, resultado de cruces entre los individuos de diferentes cariotipos y por tanto si es considerable una significancia evolutiva (Lacadena 1996). Los reordenamientos de secciones de cromosomas o cromosomas individuales pueden perderse por errores en la migración de células hijas durante la meiosis, por fusión de un cromosoma con otro o fragmentación del cromosoma.

La interpretación, caracterización e identificación de las células completas de un conjunto de cromosomas es referido como kariotipar o kariotipificación y es el primer nivel en el proceso de usar caracteres cromosomales para taxonomía y sistemática (Quicke 1993).

Un ejemplo de investigaciones cromosómicas es con las glándulas salivales de algunos dípteros, donde son hallados largos fragmentos de cromosomas politenos con un patrón de bandeo natural que no sólo permite el reconocimiento de cromosomas individuales sino también de pequeños segmentos de cromosomas (Coluzzi *et al.* 2002; Lacadena 1996; Zhao *et al.* 1998). Este patrón de bandeo ha sido útil para distinguir especies crípticas e incluso por reconstrucción de la filogenia (Munstermann y Conn 1997), conllevando a establecer una herramienta alternativa de información de la especie para diferenciación con otras especies en futuros trabajos.

2.6 Aloenzimas

La variación de la estructura de las proteínas entre los organismos efectivamente provee una ventana a las células del genoma y provee una de las simples medidas para obtener información directa de las secuencias de genes. Muchas de las investigaciones taxonómicas usan las proteínas (Hogg *et al.* 2002; Munstermann y Conn 1997), ya que comparan las propiedades físicas de particulares enzimas.

Los estudios de las proteínas se basan en la electroforesis enzimática, la cual es capaz de revelar dos tipos distintos de variación genética en el fenotipo enzimático. Primero, un locus genético codifica a una proteína enzimática particular (tal vez más de un alelo diferente que codifica diferentes secuencias de aminoácidos), estas enzimas varían en un simple locus y son llamadas aloenzimas (Monaghan *et al.* 2001, 2002). Segundo, el número de loci genéticos presentes en una proteína con una actividad enzimática particular tal vez varía, por lo que los productos enzimáticos formados de genes de diferentes loci son llamados isoenzimas (Quicke 1993).

En insectos acuáticos, los estudios moleculares que han estado enfocados a nivel enzimático (Fochetti 1994; Fochetti y Nicolai 1996; Fochetti *et al.* 1997; Hogg *et al.* 2002; Hughes *et al.* 1999; Lees y Ward 1987; Monaghan *et al.* 2001, 2002; Wright y White 1992) han sido variados.

Un ejemplo de investigaciones con el empleo de aloenzimas, es el trabajo de Monaghan *et al.* (2001), donde estudia el flujo genético de las poblaciones de las efemerópteras del género *Baetis* y permite relacionar y clasificar especies, sugiriendo flujo genético entre especies y la producción de especies nuevas.

2.7 ADN

Recientemente, siendo más disponible la información de los caracteres taxonómicos moleculares en la forma de secuencias de nucleótidos, se puede admitir que solo una porción de las secuencias de genes han sido utilizadas explícitamente para la determinación taxonómica (Arrivillaga *et al.* 2003; Munstermann y Conn 1997; Navarro y Weaver 2004; Szalanski *et al.* 2000). El aumento de la utilización de esta herramienta taxonómica es como consecuencia de que las secuencias obtenidas son fáciles de comparar entre los organismos (Quicke 1993).

En contraste, pocos trabajos taxonómicos en insectos acuáticos son señalados en la literatura, que empleen el ADN mitocondrial como carácter adicional para establecer diferencias entre especies (Cameron *et al.* 2006; Hovmöller 2006; Hunter *et al.* 2008; Ogden y Whiting 2005; Schultheis 2000; Steward y Beckenbach 2006; Terry 2003).

Un ejemplo de esta herramienta es el trabajo de Thomas *et al.* 2006, donde estudia secuencias de ADN para soportar la hipótesis del vuelo de los plecópteros. Estos autores establecen nuevas clasificaciones filogenéticas basados en la región del ADN estudiada y mediante la realización de marcadores específicos, el reconocimiento de las especies estudiadas.

3 Métodos

3.1 Taxonomía clásica y evolutiva

Los principios de la taxonomía evolutiva fueron expuestos por el paleontólogo G. Simpson en 1961 y Mayr en 1969, y al igual que la taxonomía cladística, admite la noción biológica de la especie, fundado en la filogénesis (filogenia, origen y desarrollo evolutivo de las especies) (Scrocchi y Dominguez 1992).

La taxonomía evolutiva considera que los taxones son el reflejo de las agrupaciones filogenéticas y consideran una importancia crucial al grado de diferenciación de unos grupos con respecto a otros. Parten de los supuestos: no todos los caracteres tienen igual importancia o peso evolutivo, tiene en cuenta toda la información disponible y construyen árboles filogenéticos que representan la diversificación sobre una escala temporal. Sin embargo, estos árboles son una representación evolutiva mediante métodos no explícitos y de hipótesis de difícil comprobación (Quicke 1993).

Un concepto utilizado en la taxonomía evolutiva, es el concepto de morfo. Se entiende por morfo, al conjunto de individuos de una especie que poseen un carácter morfológico común y preciso, determinado genéticamente, de esta forma se dice que las poblaciones que tienen varios morfos presentan polimorfismo (Llorente-Bousquets y Vega 1994).

3.2 Taxonomía fenética o taxonomía numérica

Este tipo de taxonomía fue enunciada por Sokal y Sneath en 1963, y se basa en agrupar a los taxa de un cierto rango en taxa de rangos superiores, sólo en función de sus grados de semejanza, esto implica una definición del grado de semejanza y técnica de estimación de este grado de semejanza o similaridad total, llevado a cabo por un sistema matemático (Quicke 1993).

Los feneticistas asumen que dos taxa similares están relativamente vinculados. Los estados de los caracteres son asignados por valores numéricos y el resultado del set de valores obtenidos por varios caracteres del grupo de individuos o del taxa es procesado con el propósito de hacer inferencias taxonómicas (Llorente-Bousquets y Vega 1994) no obstante, no es posible realizar inferencias evolutivas o filogenéticas. Se utilizan grupos de poblaciones que se definen de una forma obligatoriamente arbitraria, llamándose unidades taxonómicas operacionales (UTO's), se definen a menudo por criterios morfológicos y equivalen a especies, subespecies o superespecies de la taxonomía evolutiva (Scrocchi y Dominguez 1992).

3.3 Cladística o sistemática filogenética

El cladismo circunscribe a seguidores de la teoría sobre la construcción de la historia evolutiva (filogenia), sustentada por Willi Hennig. El término tiene sus raíces en la palabra clado, que significa rama, esto es un grupo monofilético superior o natural. El cladismo o escuela taxonómica cladista, destaca el valor fundamental de la cladogénesis (historia de los sucesos de especiación por ramificación) y da un lugar secundario a otros elementos componentes de la filogenia más relacionados con la anagénesis: polaridad evolutiva (dirección de cambio o serie de transformación), relaciones patrísticas o divergencia evolutiva (cantidad relativa de cambio), cronología de la historia evolutiva de los organismos basada en registro fósil y diversificación en nuevos ambientes siguiendo una radiación evolutiva (Llorente-Bousquets y Vega 1994; Quicke 1993).

Existen dos conceptos importantes en la sistemática cladística propuestos por Hennig desde 1950: la holomorfología (es el espectro total de caracteres que exhibe durante su vida) y el semaforonte (o epifenotipo de un organismo en su morfología en algún tiempo particular en que es inspeccionado durante su vida) (Llorente-Bousquets y Vega 1994). Otros términos relacionados son: filéticos (todas las especies que hay en el taxón derivan de una especie ancestral única, y recíprocamente, todas las especies que proceden de la ancestral pertenecen al mismo taxón) (Quicke 1993), homología (un carácter de dos o más taxa es homólogo si el carácter se encuentra en el ancestro común de estos taxa, o dos caracteres son homólogos si uno es directa o secuencialmente derivado de los otros) y homoplasia (un carácter encontrado en dos o más especies es homoplásico si el ancestro común de estas especies no tiene el carácter en cuestión o si un carácter no fue el precursor del otro) (Llorente-Bousquets y Vega 1994).

El cladismo se basa en el principio de la parsimonia, el cual establece que ante dos hipótesis evolutivas es más probable de ser cierta aquella que implique menos cambios evolutivos (Scrocchi y Domínguez 1992).

3.4 Taxonomía y sistemática molecular

Los caracteres moleculares, muy particularmente las secuencias de ADN y de aminoácidos, en combinación con métodos de biología molecular, filogenética y bajo una interpretación taxonómica y sistemática, proveen en la actualidad un enfoque poderoso en la taxonomía contemporánea para la resolución de problemas de identificación, clasificación y de planteamientos de hipótesis evolutivas entre organismos (Quicke 1993).

Las técnicas del ADN recombinante ayudan a subsanar problemas taxonómicos y a clasificar los organismos como una herramienta adicional a los caracteres tradicionales arriba señalados, ya que permite poder diferenciar unidades taxonómicas en geles de agarosa mediante métodos electroforéticos, así como también mediante el análisis más detallado utilizando las secuencias de las respectivas porciones o genes amplificados y el uso de métodos filogenéticos (Panchen 1992).

La filogenética molecular aporta una organización a partir de la cual podemos relacionar objetivamente distintos organismos, así como interpretar la corriente evolutiva que constituye la diversidad del mismo.

4 Consideraciones finales

Mucho del desarrollo de métodos y técnicas alternativas a la morfología tradicional en los trabajos taxonómicos, como la búsqueda de “nuevos” caracteres o caracteres subestimados con anterioridad, ha sido consecuencia de la dificultad de poder establecer los límites entre la variabilidad intraespecífica y la interespecífica (sobre todo en especies crípticas o especies muy relacionadas) como manera de poder establecer unidades taxonómicas válidas (especies).

Luego del paso de trabajos intensos en morfología mediante microscopía electrónica, hidrocarburos cuticulares, citogenética, isoenzimas, más recientemente las técnicas de biología molecular y el uso de los caracteres de ADN y aminoácidos han tomado un auge mayor debido a su potencia como medio para obtener una delimitación más clara en las entidades taxonómicas a estudiar, llevando a una gran parte de observadores a proponer o sugerir que éstos caracteres y técnicas remplazarán muy pronto a las aproximaciones morfológicas, ejemplo de ello puede ser el proyecto de Barcoding.

Esta visión esta siendo cada vez más vista como una perspectiva errada para los estudios taxonómicos, pues cada vez es más evidente que los estudios morfológicos son la base fundamental en las clasificaciones así como también la base de apoyo para estudios moleculares más adecuados, además que estos últimos sin un previo estudio morfológico no tienen sentido.

Estas consideraciones son también extraídas de los diferentes trabajos consultados de los cuales en su mayoría la base morfológica es fundamental y el uso apropiado de los métodos y caracteres alternativos son más un mayor apoyo como herramientas complementarias para las búsqueda de la definición de entidades biológicas diferentes y clasificaciones naturales.

5 Conclusiones

La contribución y combinación de diversas herramientas en la búsqueda taxonómica de los organismos parece ser la mejor alternativa para dilucidar dudas en el reconocimiento y diferenciación de especies, pero a pesar del surgimiento de nuevas técnicas y la combinación de diversas herramientas para evaluar la taxonomía de los insectos, la morfología tradicional es la herramienta más utilizada en los trabajos consultados.

La potencia de técnicas moleculares basadas principalmente en ADN, representan una vía importante como métodos complementarios a la morfología en la dilucidación de entidades taxonómicas. Igualmente, la combinación de caracteres y métodos para el análisis taxonómico, debe estar relacionada con el problema, las preguntas biológicas, los objetivos trazados y la hipótesis planteada.

Agradecimientos

El autor agradece a los profesores Juan Carlos Navarro y Jazzmín Arrivillaga, por los comentarios y correcciones del manuscrito.

Referencias bibliográficas

- [1] Adams D., F. Rohlf, D. Slide. 2003. Geometric morphometrics: ten years of progress following of revolution. Italian Journal of Zoology. 20pp.
- [2] Akers A. A., W. L. Peters, J. G. Peters. 2003. *Radima edmundsorum*, a new genus and species of Atalophlebiinae from Madagascar (Ephemeroptera: Leptophlebiidae). 85-89pp. In: Gaino (Ed.) Systematics, taxonomy and phylogeny. University of Perugia, Perugia, Italy.
- [3] Arrivillaga J., M. D. Feliciangeli. 2000. Diferenciación morfológica larval entre poblaciones de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva 1912) en Venezuela (Diptera: Psychodidae). Boletín de Entomología Venezolana 15(2):229-234.

- [4] Arrivillaga J., J. Mutebi, H. Pin, D. Norris, B. Alexander, M. Feliciangeli, G. Lanzaro. 2003. The taxonomic status of genetically divergent populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae) based on the distribution of mitochondrial and isozyme variation. *Journal of Medical Entomology* 40(5): 615- 627
- [5] Bispo P. C., C. G. Froehlich. 2004. *Anacroneuria* (Plecoptera: Perlidae) from Serra da Mesa, Northern Goiás state, Brasil, with descriptions of new species. *Aquatic Insect* 26(3):191-197.
- [6] Blackwelder R. 1967. *Taxonomy: a text and reference book*. John Wiley & Sons, INC. 698pp.
- [7] Cameron S. L., A. T. Beckenbach, M. Dowton, M. F. Whiting. 2006. Evidence from mitochondrial genomics on interordinal relationships in insects. *Arthropod Systematics & Phylogeny*. 64(1):27-34.
- [8] Coluzzi M., A. Sabatini, A. Della Torre, M. A. Di Deco, V. Petrarca. 2002. A Polytene Chromosome Analysis of the *Anopheles gambiae* Species Complex. *Science*. 298(5597):1415–1418.
- [9] Derka T. 2002. *Massartella devani*, a new mayfly species from Venezuela's highlands (Ephemeroptera: Leptophlebiidae: Atalophlebiinae). *Aquatic Insects* 24(4):309-316.
- [10] Fenoglio S. 2004. Perle tropicali: note ecologiche sui Plecotteri del Centro e Sud America. 55-59p. In: Casagrandi, R. and Melià, P. (Eds.) *Ecologia. Atti del XIII Congresso Nazionale della Società Italiana di Ecologia*. Aracne, Roma.
- [11] Fochetti R. 1994. Biochemical systematic and biogeographical patterns of the Italian and Corsican species of the *Protoneumura corsicana* species group (Plecoptera:Nemouridae). *Aquatic Insects*. 16(1):1-15.
- [12] Fochetti R., P. Nicolai. 1996. The genus *Taeniopteryx* in Italy: biochemical and morphological data with the description of *Taeniopteryx mercury* n. sp. (Plecoptera; Taeniopterygidae). *Bulletin de la Société Entomologique Suisse*. 69:95-106.
- [13] Fochetti R., M. Cobolli, E. Matthaeis, M. Oliverio. 1997. Allozyme variation in the genus *Isoperla* (Plecoptera; Perlodidae) from Mediterranean islands, with remarks on genetic data on stoneflies. 476-483pp. In: Landolt P., M. Sartori. *Ephemeroptera & Plecoptera: Biology-Ecology-Systematics*. MTL, Fribourg.
- [14] Gamboa M., R. Cipriani, J. Arrivillaga. 2007. Ontogenia de *Anacroneuria chorrera* (Plecoptera:Perlidae) usando morfometría geométrica de la petroteca. *Entomología Mexicana* 6(1):183-188.
- [15] Hamada N., S. R. Marques. 2003. An illustrated key to nymphs of Perlidae (Insecta, Plecoptera) genera in Central Amazonia, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia* 47(3):477-480.
- [16] Haverty M., L. Nelson, B. Thorne, M. Collins, J. Darlington, M. Page. 1992. Cuticular hydrocarbons for species determination of tropical termites. 58-66pp. In: Conrad C. E., L. A. Newell. *Proceedings of the session on tropical forestry for people of the pacific, XVII Pacific Science Congress*. USDA For. Serv. Gen. Tech. Rep. PSW-129.

- [17] Hogg I. D., P. Willmann-Huerner, M. I. Stevens. 2002. Population genetic structures of two New Zealand stream insects: *Archichauliodes diversus* (Megaloptera) and *Coloburiscus humeralis* (Ephemeroptera). New Zealand Journal of Marine and Freshwater research 36:491-501.
- [18] Hovmöller R. 2006. Molecular phylogenetics and taxonomy issues in dragonfly systematics (Insecta: Odonata). Tesis del Departamento de Entomología del Museo de Historia Natural de Swedish para optar por el grado de doctor. Stockholm University. Sweden. 67pp.
- [19] Hughes J. M., P. B. Mather, A. L. Sheldon, F. W. Allendorf. 1999. Genetic structure of the stonefly, *Yoraperla brevis*, populations: the extent of gene flow among adjacent montane streams. Freshwater Biology. 41:63-72.
- [20] Hunter S. J., T. I. Goodall, K. A. Walsh, R. Owen, J. C. Day. 2008. Nondestructive DNA extraction from blackflies (Diptera: Simuliidae): retaining voucher specimens for DNA barcoding projects. Molecular Ecology Resources. 8:56-61.
- [21] Ivanov V. D., S. I. Melnitsky. 2006. The morphology of *Dajella tenera* (Trichoptera, Glossosomatidae): Taxonomic status and evidence for the pheromone communication in the Mesozoic. Entomological review. 86 (5):568-575.
- [22] Jaramillo N., D. Castillo, M. Wolf. 2002. Geometry morphometric differences between *Panstrongylus geniculatus* from field and laboratory. Memorias del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. 97(5):667-673.
- [23] Lacadena J. 1996. Citogenética. Editorial Complutense. Madrid, España. 931pp.
- [24] Lees J. H., R. D. Ward. 1987. Genetic variation and biochemical systematic of British Nemouridae. Biochemical Systematics and Ecology. 15(1):117-125.
- [25] Liria J., J. C. Navarro. 1999. Morfología bucal larval de *Deinocerites melanophylum* Dyar & Knab y *D. cancer* Theoblad (Diptera: Culicidae). Boletín de Entomología Venezolana. 14(1):53-62.
- [26] Llorente-Bousquets J. L., I. L. Vega. 1994. Taxonomía biológica. Ediciones Científicas Universitarias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 626pp.
- [27] Maingon R. D. C., R. D. Ward, J. G. C. Hamilton, H. A. Noyes, N. Souza, S. J. Kemp, P. C. Watts. 2003. Genetic identification of two sibling species of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) that produce distinct male sex pheromones in Sibril, Ceará state, Brasil. Molecular Ecology. 12:1879-1894.
- [28] Maldonado V., H. J. Finol, J. C. Navarro. 1997. *Anopheles aquasalis* eggs from two Venezuelan localities compared by scanning electron microscopy. Memorias del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. 92(4):487-491.
- [29] Matias A., J. de la Riva, M. Torrez, J. Dujardin. 2001. *Rhodnius robustus* in Bolivia identified by its wings. Memorias del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. 96(7):947-950.

- [30] Monaghan M. T., P. Spaak, C. T. Robinson, J. V. Ward. 2001. Genetic differentiation of *Baetis alpines* Pictet (Ephemeroptera: Baetidae) in fragmented alpine streams. *Heredity*. 86:395-403.
- [31] Monaghan M. T., P. Spaak, C. T. Robinson, J. V. Ward. 2002. Population genetic structure of 3 alpine stream insects: influences of gene flow, demographics, and habitat fragmentation. *Journal of North American Benthology Society*. 21(1):114-131.
- [32] Monrroy A., D. Bustamante, A. Rodas, R. Rosales, M. Mejía, Y. Taburu. 2003. Geographic distribution and morphometric differentiation of *Triatoma nitida* Usinger 1939 (Hemiptera:Reduviidae:Triatominae) in Guatemala. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro*. 98(1):37-43.
- [33] Munstermann L. E., J. E. Conn. 1997. Systematics of mosquito disease vectors (Diptera, Culicidae): Impact of molecular biology and cladistic analysis. *Annual Review of Entomology* 42:361-369.
- [34] Navarro J. C. 1998. Fauna de mosquitos (Diptera: Culicidae) del Parque Nacional Cerro El Copey y nuevos registros para la Isla de Margarita, Venezuela. *Boletín de Entomología Venezolana*. 13(2):187-194.
- [35] Navarro J. C., J. Liria. 2000. Phylogenetic relationships among eighteen neotropical Culicini species. *Journal of American mosquito control association*. 16(2):75-85.
- [36] Navarro J. C., S. C. Weaver. 2004. Molecular phylogeny of the Vomerifer and Pedroi groups in the Spissipes section of the subgenus *Culex* (*melanoconion*). *Journal of Medical Entomology*. 41(4):575-581.
- [37] Nixon K., H. Ochoterena. 2001. Taxonomía tradicional, cladística y construcción de hipótesis filogenéticas. 15-37pp. En: Hernandez H., A. García, F. Alvarez y M. Ulloa. Enfoques contemporáneos para el estudio de la biodiversidad. Instituto de biología, UNAM, México.
- [38] Ogden T. H., M. F. Whiting. 2005. Phylogeny of Ephemeroptera (mayflies) based on molecular evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 37:625-643.
- [39] Panchen A. L. 1992. Classification, evolution and the nature of biology. Cambridge University press. United States of America. 403pp.
- [40] Quicke D. L. J. 1993. Principles and techniques of contemporary taxonomy. Blackie academic & professional. Chapman & Hall. United States of America. 311pp.
- [41] Riva J., F. Le Pont, V. Ali, A. Matias, S. Mollinedo, J. Dujardin. 2001. Wing geometry as a tool for studying the *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) complex. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro*. 96(8):1069-1094.

- [42] Rohlf F. 1998. On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. *Systematic of Biology*. 47:147–158.
- [43] Schultheis A. 2000. Gene Flow and Dispersal among Populations of the Stonefly *Peltoperla tarteri* (Plecoptera: Peltoperlidae) in the Southern Appalachians. Tesis de la Facultad de Virginia para optar por el título de Doctor. Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, Virginia. USA. 86pp.
- [44] Scrocchi G. J., E. Domínguez. 1992. Introducción a las escuelas de sistemática y biogeografía. Fundación Miguel Lillo. Tucumán, Argentina. 120pp.
- [45] Steward J. B., A. T. Beckenbach. 2006. Insect mitochondrial genomics 2: the complete mitochondrial genome sequence of a giant stonefly, *Pteronarcys princeps*, asymmetric directional mutation bias, and conserved plecopteran A+T region elements. *Genome*. 49: 815-824.
- [46] Stewart K. W., B. P. Stark. 2002. Nymphs of North American stonefly genera (Plecoptera). The Thomas Say Foundation, Entomological Society of America. 12:1–510.
- [47] Szalanski A. L., D. S. Sikes, R. Bischof, M. Fritz. 2000. Population genetics and phylogenetics of the Endangered American Burying Beetle, *Nicrophorus americanus* (Coleoptera: Silphidae). *Annual Entomology of Society of America*. 93(3):589-564.
- [48] Thomas M. A., A. K. Walsh, M. R. Wolf, B. A. McPheron, J. H. Marden. 2006. Molecular phylogenetics analysis of evolutionary trends in stoneflies wing structure and locomotor behavior. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 97(24):13178-13183.
- [49] Terry M. 2003. Phylogeny of the Polyneopterous insects with emphasis on Plecoptera: molecular and morphological evidence. Tesis de la Facultad de Brigham para optar por el título de Doctor. Young University. USA. 125pp
- [50] Watts P. C., J. Gordon, R. D. Ward, H. A. Noyes, N. A. Souza, S. J. Kemp, M. D. Felicianigeli, R. Brazil, R. D. C. Maingon. 2005. Male sex pheromones and the phylogeographic structure of the *Lutzomyia longipalpis* species complex (Diptera: Psychodidae) from Brasil and Venezuela. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 73(4):734-743.
- [51] Winston J. 1999. Describing species: practical taxonomic procedure for biologists. Columbia University press. New York. 518pp.
- [52] Woodrow R. J., J. K. Grace, L. J. Nelson, M. I. Haverty. 2000. Modification of cuticular hydrocarbons of *Cryptotermes brevis* (Isoptera: Kalotermitidae) in response to temperature and relative humidity. *Environmental Entomology*. 29(6):1100-1107.
- [53] Wright M., M. M. White. 1992. Biochemical systematic of the North American *Pteronarcys* (Pteronarcyidae:Plecoptera). *Biochemical Systematic and Ecology*. 20(6):515-521.

- [54] Ximenes F., E. G. Castellón, R. A. Freitas. 2002. Morphological genitalic anomaly in specimens *Lutzomyia longipalpis* sensu lato (Lutz & Neiva, 1912) collected in the State of Rio Grande do Norte, Brasil. *Entomotropica*. 17(2):183-184.
- [55] Zhao J. T., M. Frommer, J. A. Sved, A. Zacharopoulou. 1998. Mitotic and polytene chromosome analyses in the Queensland fruit fly, *Bactrocera tryoni* (Diptera: Tephritidae). *Genome*. 41:510–526.

Dirección del autor

Maribet A. Gamboa
Departamento de Estudios Ambientales
Lab. de Genética de poblaciones, Ecología molecular de insectos
Universidad Simón Bolívar, Caracas - Venezuela
maribetg@gmail.com